



TITLE:

微生物システムの現象論(SessionI: 生態,動的システムの情報論5-微小 生物の生態と運動-)

AUTHOR(S):

立川, 正志

CITATION:

立川, 正志. 微生物システムの現象論(SessionI: 生態,動的システムの情報論5-微小生物の生態と運動-). 物性研究 2007, 87(6): 884-892

ISSUE DATE:

2007-03-20

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/110782>

RIGHT:

微生物システムの現象論

JST, ERATO 金子複雑系生命プロジェクト 立川 正志¹

1 モデルシステムとしての微生物生態系

生態系を個体数動力学を用いて数理的に記述する方法は 20 世紀初頭から研究されている古い分野であり理論の蓄積があるが、その目標とするところは何であろうか？筆者の過去の研究 ([1]) も含め純粋な思考実験を出発点としているものも多くあり、実際のシステムの再現にまで至っていない (反省を交えて言えば至ろうとしていない)。そのためそれらに予言能力があるかと問われると懐疑的にならざるをえない部分も多々ある。このように現象と記述が遊離している理由は、第一には対象としているシステムが現実的に観測可能なスケールの外にあることが挙げられるであろう。実際生態系は、定量的に観測するには時空間スケール・関与する種の数・相互作用などさまざまなレベルで非現実的な多様性を内在している。そのため生態系に関して一般的な議論を行いたければ、思考実験の枠組で多様性 (多くの場合これはランダムネスが仮定される) を表現し、その現実との関係を類推的に議論するという方法がとられている。

一方、現実的に観測できるシステムに限定してその記述法を探ることから生態系の原理を議論することも続けられている。ここではそのようなモデル生態システムとして微生物生態系の可能性を考えてみたい。微生物生態系は実験室で構成可能で種間相互作用を規定しやすい²ため上述の理論研究に対応した構成的方法が可能であり、現象とリンクした数理的理論が期待される。もちろんこの方法の根底には“生態系における一般原理が存在する”という楽観的な予想があるが、そのうえで微生物生態系がその原理を考えるに足る多様性・複雑さを持ち合わせているかを少し考えたい。なお、この多様性のあり方については本報告書の他の報告に詳細かつ深く議論されており、ここでの議論もそれらを基にしている ([2])。

まず時間スケールを例にとると、細菌の一回の分裂に要する時間 (倍加時間) は可能な限り十分快適にコントロールされている状況でも単種で培養する場合で 30 分という早い種から 1 週間以上という長いものまで確認されている。土壌中などの自然界においては平均年一回程度分裂するとも見積もられている。また土壌中の微生物は鉱物の表面などにまばらに存在しているが、一方で biofilm などのように多種が密に混在して (細菌スケールに比べ) 大きな空間構造を形成することも知られ

¹E-mail: mtach@complex.c.u-tokyo.ac.jp

²対象を限定しない生態系の議論においてもっとも定義困難なものが、個体の持つ戦略および各戦略が出会ったときの相互作用であろう。身体的特徴・環境・神経システムの複雑さなどに応じて変化する生存のための方法は、抽象的なゲームの枠組で定義される戦略の様にあらかじめ集合として用意されうるものか疑問である。

ている。そもそも、このように単種で培養させられる細菌の種類は全種のうち 1 ~ 0.1% 程度であると考えられており、その多様性は近年環境中のゲノムを直接調べることにより (Metagenomics) 徐々に明らかにされつつある。このように単離培養不可能である理由の多くは、微生物同士の相互作用がその増加に関与することによる。他の種の副生成物に依存している種や、自分の生成物質が除去されないかぎり (他の種に消費されないかぎり) 連続的に増殖できない種など、細菌に限っていても物質を通した密な相互作用が実験により確かめられている。このように微生物間の相互作用は専ら物質の授受により行われるが、それは上で述べた代謝に直接関与する物質に限らず、シグナル物質のファミリーを生成することにより同種間異種間で特異的に情報伝達を可能としていること (Quorum Sensing) が知られており、情報レベルでの戦略としての相互作用をも含む多様な関係を構築していることがわかる。

このように微生物生態系は上に挙げた条件をみたしかつそれらが複雑に絡み合ったシステムであり、一方で現実的なスケールに実際に構成できることに生態系のモデルシステムとしての意義がある。もちろん実験事実はその複雑な相互作用構造を直ちに明らかにするわけではないが、理論的考察が現在手の届く現象の範囲を広げるのに役立てるのであれば、その協力は、現象を伴った生態学の理論を構築し得るのではないだろうか。

本小文では細菌を中心とした微生物の個体数動力学扱った現象論とそれを基にした理論およびその実験的な構成の例を通して微生物生態学の理論の可能性を示したい。なお筆者がこの分野に入って日が浅いため、以降の話題の多くはオリジナルなものではなく発表されている結果を元に再構成したことをここで断っておく。

2 Monod Kinetics — 微生物増殖の現象論

微生物の増殖の動力学に関する現象論的考察は、1942 年の Jacques Monod の学位論文 [3] に於いてすでに提出されており、その大枠は現在に至るまで修正を受けていない。微生物の個体数密度を x 、 s を増殖の律速となっている基質の濃度とすると、Monod Kinetics は

$$\dot{x} = \mu(s) \cdot x \equiv \bar{\mu} \frac{s}{k + s} x \quad (1)$$

と表される。ここで、 $\bar{\mu}$ は最大増殖率で k は半飽和値であり、 $\mu(s)$ は基質濃度の関数としての増殖率を表す。この形式は Michaelis-Menten 型の酵素反応と類似しており、微生物の増殖のための生化学反応全体を律速する過程が存在することを示唆している³。Monod Kinetics が修正を受けつつも現象論として現在に至るまで受け入れられているのは、実験事実をフィットできる程には確からしい式となっているからであり、現在でもこの形式の仮定の基に実験から細菌の増殖のパラメタが議論されている [5, 6, 7]。

この Monod Kinetics では考慮している基質が増殖に必須である事に注目して、その濃度がゼロのとき増殖速度がゼロとしているが、微生物が必要とする栄養素は増殖だけでなく個体 (数)

³Monod Kinetics の素過程との関係は [4] などで詳しく議論されている。

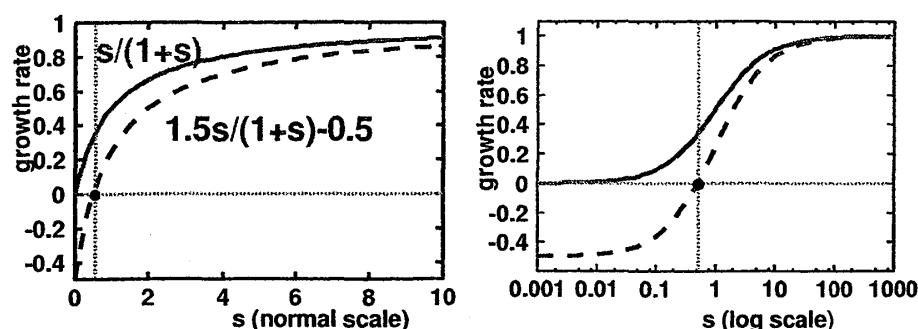


図 1: Monod Kinetics (実線) とその修正系 (破線) における増殖速度の基質 (s) 依存性。左図は s に関して実スケールで右図は対数スケールで表示。

の維持に必須であるものも多い。そのため増殖できなくなる限界の濃度はゼロより大きいと考えられる。このことを考慮して Monod Kinetics を修正したモデルも幾つか提案されている [5, 8]。それらは数理的にはほぼ等価なものが多く、ここではその一つを採用する。

$$\dot{x} = \mu'(s) \cdot x \equiv \left\{ (\bar{\mu} + d) \frac{s}{k + s} - d \right\} x \quad (2)$$

ここで、基質が臨界濃度 $\bar{s} = \frac{k(\bar{\mu} + d)}{\bar{\mu} + 2d}$ を下回ると増殖速度が負となっている。ケモスタット培養系のモデルと考えるとこれは希釈速度に増殖が追い付かなくなる状況に対応しており、自然界においては微生物が死滅していく過程と考えられる。パラメタ d は場合に応じて希釈率あるいは死亡率となる。ここで留意すべきは微生物の死と増殖しない事に関連はそれぞれの種の飢餓状態への戦略に応じて多様であり、基質の不足が則、死を意味するとはかぎらないことである。また、そもそも基質の濃度を決めればそれまでの履歴に依存せず増殖速度が一意に定まることは自明ではない。しかし以下の節で述べるようにこの形式を用いて記述可能な現象も存在し、一次近似として受け入られている。この問題は本小文の最後でもう一度触れることにする。

3 微生物競合の現象論

この節では Monod Kinetics を、例として単一の資源を巡る多種系の競合状況に適用することによりその特性を議論し、それを通して現象論に立脚した理論の可能性を考えたい。

3.1 基質の消費

前節で微生物の個体数の変化に関しては現象論的方程式を与えたが、単一の資源を巡る競合を考えるためには資源となる基質濃度の変化についても議論しなければならない。以下で基質濃度を環境因子として環境が定常である場合と揺らぐ場合について考えるが、ここで、例えば基質の濃度一定 ($s = \text{const.}$) が定常的な環境に対応するならば議論はしごく簡単になる。その基質の濃度において種 i と j の組が $\mu'_i(s) > \mu'_j(s)$ の関係にあればその個体数比は時間とともに $x_j/x_i \rightarrow 0$

へと収束していく。環境が揺らぐ場合についても、その揺らぎがあらかじめ $P(s)$ のような分布関数で与えられるなら同等の話であり、

$$\int \mu'_i(s)P(s)ds > \int \mu'_j(s)P(s)ds \quad (3)$$

で与えられる二種は $x_j/x_i \rightarrow 0$ と収束していく。そのためどちらの場合も $\mu'_i(s)$ や $\int \mu'_i(s)P(s)ds$ の値に縮退がなければそれらの値が最も大きな種のみが生き残ることになるだろう⁴。どちらの場合も種ごとに増殖率がパラメタとして算出されその値の大小で決まるため、種間相互作用のないゲーム論的生態学が適用される。

しかしケモスタットの実験や自然界などを考えてみると容易に実現されうるのは、基質濃度そのものがシステム(微生物生態系)と切り離されて定められた状態ではなく、ある限定された領域にその外部(環境)から流入してくる基質の量が制御された状態である。その状況下で基質濃度はシステムの一部であり微生物の個体数に対し共変するものとなる。このことはゲーム力学系の枠組で考慮されていない微生物の総量としての変化を記述することにもなる⁵。

ここでは基質が供給され微生物により摂取されるダイナミクスを以下のように記述する。

$$\dot{s} = S(t) - \frac{s}{k+s}x \quad (4)$$

基質の摂取は再び Monod Kinetics と同じ半飽和値 k を持つ Michaelis-Menten 型であり、原点はずれない。 $S(t)$ は単位時間あたりの基質の供給量であり、これが定数 ($S(t) = S_0 = \text{const.}$) である場合を定常環境とし、環境の揺らぎとしては $S(t)$ が時間の関数として揺らぐ状況を扱う。

3.2 静的な競合

以下のように定常的に基質が供給される状況下における多種系を考える。

$$\begin{cases} \dot{x}_i = \left\{ (\bar{\mu}_i + d_i) \frac{s}{k_i+s} - d_i \right\} x_i \\ \dot{s} = S_0 - \sum_i \frac{s}{k_i+s} x_i \end{cases} \quad (5)$$

この式は、パラメタの組 $(\bar{\mu}_i, k_i, d_i)$ で特徴付けられた種 $i = 1, \sim, N$ が単一の資源 s で増殖している事を表している。この設定において生き残る種とはどのような特徴を持つものであろうか？上と同様にゲーム論的生態学を適用するならば増殖速度の早いものがやがては大勢を占めることになるが、増殖速度を決める基質濃度はコミュニティ構造とともにかわるため、上の議論を単純に適用することはできない。

パラメタを $k_i = 2.0 \cdot 10^{2-i}$, $\bar{\mu}_i = 0.1\sqrt{k_i}$, $d = 0.5$ とした5種系 ($i = 1, \dots, 5$)⁶のシミュレーションを図2に示す。これによると、初期には増殖の早いもの ($i = 5$) が増えて大勢を占める

⁴縮退していても実現されるのは中立的な共存である。

⁵ゲーム力学系は個体数比に注目しているため限定された資源を取り合うことの直接的効果が組み込まれていない。

⁶最大増殖率 ($\bar{\mu}$) と増殖率が飽和する濃度 (k) の間に trade-off を仮定している。

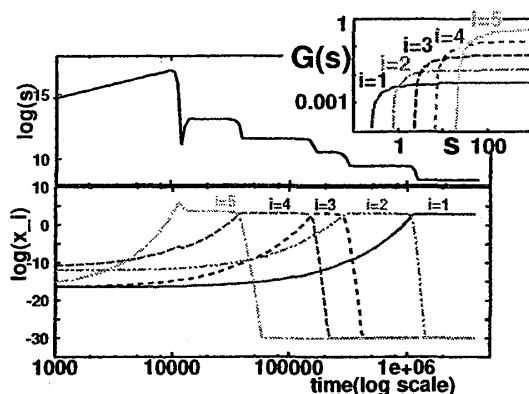


図 2: s に対する異なる依存性を持つ多種競合系の、静的な状況における個体数変動のダイナミクス。右上の挿入図は各種 ($i = 1, \dots, 5$) の s に対する増殖速度の依存性 ($\mu_i(s)$)、上図は基質濃度の時系列変化、下図は各種の個体数の時系列変化を対数表示で示す。線種は対応。下図より最大増殖速度が速い種 5 から順に侵入してきて、遅く s 種に駆逐されているのがわかる。上図にその時の基質濃度 s の時間変化を示しているが、新しい種に侵入されると基質濃度がさがり (新しい種の s になり) 元いた種が個体数を維持できずに死滅していくのがわかる。

種となるが順々に他の種に侵入されて絶滅していき、最終的には、最大増殖率が一番小さく半飽和値も小さい種 ($i = 1$) が生き残っている。

その理屈は微生物が増殖しなくなる状況について考えてみると明解である。ある種 (i) がそのコミュニティの Majority となって増殖を止めたとき環境の基質の濃度はその種の臨界濃度 $\bar{s}_i = \frac{k_i(\bar{\mu}_i + d)}{\bar{\mu}_i + 2d}$ となっており、他の種 (j) がその状況下で侵入できるかはそれらの \bar{s}_j が \bar{s}_i より小さいかどうかで決まる。 $\bar{s}_j < \bar{s}_i$ なら $\mu_j(\bar{s}_i) > 0$ なので種 j は増加する。より小さい \bar{s}_j を持つ種が基質の濃度を変化させるまで十分増加すれば濃度がその値までさがるので、 $\mu_i(\bar{s}_j) < 0$ となりそれまで Majority であった種 i の個体数は減少していく。結果、最終的に残る種は最も小さい \bar{s} を持つ種 (最も薄い基質濃度で生きられる種) であり、最大増殖率よりは半飽和値 k の方に大きく依存する。この結果は実験としても確かめられている。Wick らの結果 ([7]) によると、*E. Coli* をグルコースが増殖の律速となる条件下で飼い続けるとまず増殖速度が大きい方に進化した mutant が現れるが、やがて半飽和値 k の小さい mutant に変わりその変化は培養液中の glucose 濃度の変化から観測されている。

ここで紹介した例は現象としては特に新規なものではないかもしれないが、『資源を巡る (単純な) 競争では増殖速度の大きな種が生き残る (レプリケーターシステムで記述される)』という考え方に対して、シンプルな設定による反例を示している。ここで生き残った種の特徴を言えばより低い濃度でも死なない種である。この一見消極的な戦略が基質の濃度という環境条件を制御できる立場に立ったとき、他の、より速く変化する種を駆逐していく。適者生存の適者とは必ずしも増殖が速い者を意味しないことを (当たり前かもしれないが) 改めて示唆しており興味深い。

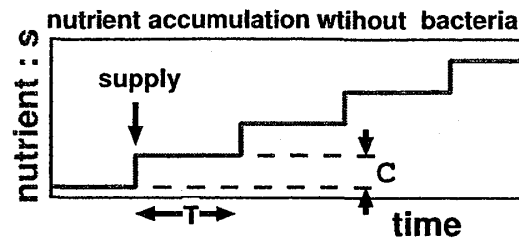


図 3: 導入する環境揺らぎの模式図。基質が微生物に消費されない場合の蓄積していく時系列 ($\int S(t) dt$) を示す。基質は周期的なタイミングで一定量ずつ供給されていく。

3.3 環境揺らぎと多種共存

前節では定常的な環境における微生物多種系の競合関係を取り上げ、増殖可能な基質濃度の下限が小さい種が最終的に残ることを示したが、ここでは環境の揺らぎを導入した場合に多種が共存しうることを数値的に示す。先に述べたように環境の揺らぎとして基質の供給量が時間とともに変化する設定を採用し、系として (5) 式で S_0 の代わりに時間的に変動する $S(t)$ としたものをを用いる。 $S(t)$ は周期 T ごとに一定量 C だけ印加されるとして⁷、 δ 関数の重ね合わせで表現する (図 3)。

シミュレーションを実行する前に設定について少し考察を加えると、あらゆる基質濃度に対して $\mu'_1(s) > \mu'_2(s)$ となるような二種を最初に用意すると x_2/x_1 は単調にゼロに漸近する。あらゆる環境条件について劣っている種が存在すれば、その種は集団内に固定化されないであろう。つまり多種が共存するためには基質濃度が異なれば優位な種が入れ替わる必要がある。そこでモデルに $k_1 < k_2 \Leftrightarrow \bar{\mu}_1 < \bar{\mu}_2$ を要請し、rich な環境でのみ増えられるがその (最大) 増殖速度は速い種と貧栄養でも増えられるがどんなに栄養条件がよくなってもあまり速くは増えられない種の競合 (図 4 左図参照) を考える。

この trade-off を考慮した二種系において適当な環境パラメタを選べば図 4 に示すように安定な共存解が構成できる。この共存解は相図 5 で見られるように、パラメタの変化に対してロバストである。この共存現象は Litchman らにより海中に存在する 2 種のプランクトンに対して適用され、実際のパラメタを基にそれら 2 種の共存が議論されている ([9])。

これまで議論では単一の資源を直接的な相互作用無しで取り合えば、その優劣は 1 パラメタで完全に決定できるとされており、前節の定常環境での競合もその議論の範囲内である。ではここでの結果は何を意味するのであろうか？まだ完全な解釈には至っていないが、共存を可能にしている機構について少し議論したい。

ここで導入したような十分に半飽和値と増殖率が異なる種同士は、同一の資源を取り合っているとはいえ、完全に同じニッチに属しているとは言えないのではないだろうか。シミュレーションの時系列から分かる通り、増殖の速い種が増減を繰り返してもそれに伴う基質の濃度変化の下

⁷ここでは周期的な揺動の結果に付いて述べるが、基質の供給タイミングがポアソン過程のような確率的に決まる場合でも同じ現象がみられる。

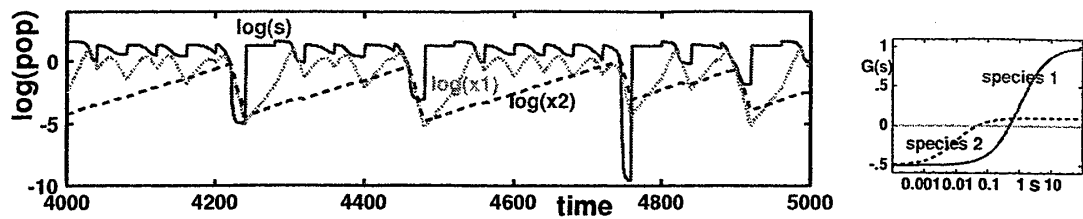


図 4: 左図: 周期的なタイミングで基質が供給される系の、基質濃度 (s)、種 1・2 の個体数 (x_1, x_2) の時系列 (log scale 表示)。2 種のパラメタは $(k_1, \bar{\mu}_1) = (1, 1)$, $(k_2, \bar{\mu}_2) = (0.01, 0.1)$, $d = 0.5$ (左図に増殖関数 $\mu'(s)$ のグラフを表示), 基質供給のパラメタは $T = 40$, $C = 2.0$ 。種 1 は基質の供給周期にあわせて増加-基質の消費-減少を繰り返している。一方種 1 がもたらす基質濃度変化は種 2 の増殖速度に影響を与えないため ($\mu'_2(s)$ はその band より低い濃度で飽和しているため)、種 1 の増減には応答せずほぼ最大増殖率で増えていき、種 2 の個体数 x_2 が基質の濃度変化に影響を及ぼすまで成長して初めて減少している。

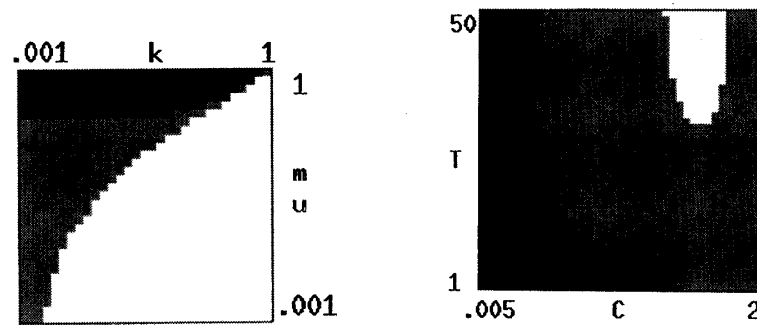


図 5: 2 種が共存するためのパラメタ領域。左図は種 1 がパラメタ $(k_1, \bar{\mu}_1) = (1, 1)$ を持つときの種 2 のパラメタ $(k_2, \bar{\mu}_2)$ とその共存性。白色は種 1 のみが残るパラメタ領域で黒色は種 2 が残る領域、灰色の領域が二種が共存可能な領域。 $T = 40$, $C = 2.0$ 。右図はパラメタ $(k, \bar{\mu}) = (1, 1)$, $(0.01, 0.1)$ を持つ二種に対し、基質の供給周期 T と供給量 C を変えた場合の共存性を示す相図。色は左図と同じ。

限は高々その種の臨界濃度 s_1 程度であり増殖の遅い種の増殖速度を変化させるにはいたらないため、遅い種は速い種がつくり出す環境変動に左右されずに増殖し続ける。一方、遅い種の個体数が十分小さくなると基質の濃度変化に直接影響を与え遅い種の s_2 まで濃度は下がるため速い種もその影響をうけるが (図 4 では 2 種が同時に減少している局面)、次の供給があると速やかに増殖するので、遅い種からの影響は引きずらず短時間で収束する。このように Monod Kinetics において飽和した濃度領域での揺らぎは個体数変動に影響を与えないため、揺らぎへ応答する濃度帯と増殖率の間に上で採用した trade-off の関係があればそれらの種間の相互作用は実効的に切れていると考えられ、それぞれが独立に揺らぐ供給に応答している状況に近くなっている。つまり揺らぐ環境では資源が単一に限定されていても異なる濃度へ応答するという複数のニッチを許容され、共存状態が実現されていると考えられる。

4 Beyond Monod Kinetics

上二節で微生物増殖の現象論である Monod Kinetics を紹介しその適用例を見てきたが、それらより Monod Kinetics は現象を記述する能力があると言ってよいだろう。では一つの基質に注目した増殖の議論はこの方程式で尽きているかということ、生物を記述するときの常であるがもちろんそうはならない。最初の節で述べたように Monod Kinetics から構成的な理論研究へと繋げるためには、その適用範囲と範囲外にどのような現象が存在するかについて考察することは必要である。本小文の最後にこの Monod Kinetics で記述される class を越えた現象について少し議論したい。

Monod の式において増殖が基質の濃度に対し一意に定まっていると言うことは、各微生物種がその環境に対し最適の状態へ適応していることを意味している。つまりモデルで想定される時間スケールは微生物種の適応時間より十分に長くなければならない。前半の定常環境の場合は外部から時間スケールが導入されていないので、微生物の個体数変化のスケールが状態変化より十分遅ければ上が満たされるが、微生物系についてはそれが常に成り立つかどうかは疑わしい。Wick の実験 ([7]) では mutation の結果として \bar{m} の小さい変異体が現れ集団に固定化されているが、一方、この (変異体が現れる) 変化と同等な時間スケールを持つ適応現象も十分考えられる。また環境の揺らぎを明示的に取り入れた場合は、その揺らぎの時間スケールと微生物種の持つ適応の時間スケールとの関係を検討しなければならないだろう。もしそれらの関係が十分離れておらず動的な相関を持ちうるなら、適応ダイナミクスを考慮して各微生物の細胞の状態を記述する必要が生じる。そうなれば当然同一種内でも個体差が現れるため、上で示したように一種に対し 1 ないし少数の自由度でその個体数の変化が記述できるか定かではない。

今日に至るまで Monod Kinetics が現象に適用されてきたのはその有用性にある。この少ない自由度による平易な記述は再現性のある微生物のふるまいに良く適合しており、このことが妥当性の検証が常に求められる実験科学にとって有用であることは言を待たない。しかしこの平易さと再現性が独立のものではない (平易さが再現性の確認を可能にしている) ことに注意すると、Monod Kinetics の位置付けは微生物研究の履歴を引きずっており、自然を記述するための道具としての地位、生態学の理論研究における地位はまた別にあると思われる。微生物増殖の研究は十分に実験系全体を制御して結果の再現性を保証する努力とそれを記述するシンプルな現象論とにより発展してきた分野であり、もちろんその有効さを疑うわけではないが、その履歴と方向性を考慮せずに生態学へ応用しようとすれば、実際の自然現象における“制御できない部分の複雑さ”を見誤る可能性もあることに留意しなければならない。

本文のはじめにおいて、微生物生態系は制御可能なスケールの現象でかつ多様なスケールを含むと述べたが、この『多様なスケール』全てが『制御可能なスケール』に含まれているわけではない。正しくは、微生物生態系は多様なスケールや複雑さを持ちその一部として制御可能な現象を切り出すこともできるシステムである。切り出された現象が全体のどの部分であり地平がどの方向に広がっているかを示すことができれば、微生物生態系の多様性を考える上で重要な足掛か

りとなるにちがいない。

参考文献

- [1] 立川正志, 物性研究, **77**, (2001), pp533; M. Tachikawa, Prog. Theor. Phys., **109**, (2003), pp133; M. Tachikawa, Prog. Theor. Phys. Suppl., **150**, (2003), pp449.
- [2] 微生物生態系の多様性について本報告書以外の文献を若干挙げておく。
Metagenomics: W. R. Streit *et al.*, Curr. Opin. Microbiol., **7** (2004), 492; **Symbiosis**: K. Ueda *et al.*, Appl. Microb. Biotech., **60** (2002), 300; **Quorum Sensing**: R. Daniels *et al.*, Microbiol. Rev., **28** (2004), 261; **Biofilm**: M. E. Davey and G. A. O'Toole, Microbiol. Mol. Biol. Rev., **64** (2000), 847.
- [3] J. Monod, *Recherches sur la Croissance des Cultures Bacteriennes*, (1942, Thesis); J. Monod, Annu. Rev. Microbiol., (1949), 371.
- [4] D. K. Button, Microbiol. Rev. **43** (1985), 270; D. K. Button *et al.*, Appl. Environ. Microb. **70** (2004), 5511.
- [5] H. Senn *et al.*, Biochim. et Biophys. Acta **1201** (1994), 424.
- [6] K. Kovarova-Kovar and T. Egli, Microbiol. & Mol. Biol. Rev. **62** (1998), 646.
- [7] L. M. Wick *et al.*, Microbiology **148** (2002), 2889.
- [8] 服部勉 『微生物学の基礎』 (学会出版センター 1986).
- [9] E. Litchman and C. A. Klausmeier, American Naturalist, **157** (2001), 170.